

イヌ由来ジアルジアの実験動物への感染実験

誌名	日本大学農獣医学部学術研究報告
ISSN	00780839
著者名	佐藤,茂 浅野,隆司 保刈,成男
発行元	日本大学農獣医学会
巻/号	51号
巻号補足	
掲載ページ	p. 26-31
発行年月	1994年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



Experimental Infection to Laboratory Animals of *Giardia* sp. Isolated from the Dog

Shigeru SATO¹, Ryuji ASANO¹, Shigeo HOKARI¹, Eiji MURASUGI²,
Yasutomo ARASHIMA³ and Kinya KAWANO³

¹ Lab. Veterinary Pharmacology, ² 2nd Lab. Veterinary Internal Medicine, Coll. Agr. & Vet. Med.,
Nihon Univ., 1866 Kameino, Fujisawa-shi, Kanagawa 252

³ Dept. Clinical Pathology, Nihon Univ. School of Medicine

(Accepted Dec. 4, 1993)

Abstract: Experimental infection to laboratory animals was attempted using *Giardia* sp. isolated from the dog.

Mice, rats and Mongolian gerbils became infected following oral inoculation with *Giardia* trophozoites (3.5×10^4 trophozoites/animal). In mice cysts were first detected in feces after 2-4 days of the inoculation, and the period of cyst release in individual animals varied from 16 to 30 days. Rats were highly susceptible to infection with the dog-derived *Giardia* sp., and cyst were first detected in feces on the next day of the inoculation and released consistently during the experimental period (30 days). The gerbils, however, were not very suitable hosts to study canine giardiasis for poor susceptibility to infection with the dog-derived *Giardia* sp.

Key words: Dog-derived *Giardia* sp., Experimental infection, Laboratory animals

イヌ由来ジアルジアの実験動物への感染実験

佐藤 茂¹・浅野 隆司¹・保刈 成男¹
村杉 栄治²・荒島 康友³・河野 均也³

日本大学農獣医学部 ¹ 獣医薬理学研究室 ² 獣医第2内科学研究室
³ 日本大学医学部 臨床病理学教室

(1993年12月4日受理)

ジアルジアは、肉質鞭毛虫門に属する原虫で、ヒトを初めイヌ・ネコなど各種動物に感染し、下痢症の原因となる寄生虫である。本原虫は感染動物の糞便や汚染食物・飲水からシストあるいはトロフォゾイトを経口摂取することにより、感染・伝播する。その寄生部位は主として小腸粘膜表面で、宿主の栄養吸収不良を引き起こす。

本原虫の分類には2説があり、寄生した動物の種類によって、ヒトの *Giardia lamblia*, イヌの *G. canis*, マウス・ラットの *G. muris* などのように命名され、それぞれが独立したものとして分類される説と、虫体の大きさや形態により, *G. duodenalis*, *G. muris*, *G.*

agilis の3種として分類する説がある。いずれにせよ明確な分類は未だになされておらず不明な点が多いが、一般には前者の分類法が用いられている。

また、動物からヒトへの感染や、株の種類による病原性の有無についても検討され、人畜共通感染症の可能性も考えられているが、これも明らかにされていない。

近年, *G. lamblia* のイヌ¹⁾, ラット²⁾, スナネズミ^{3,4)} 等の実験動物に対する人工的な感染実験が行われ、ヒトから動物への感染が否定できないとの報告がなされている。しかし、他の *Giardia* sp. の動物からヒトへの感染を立証した報告はまだ認められない。

そこで、我々はジアルジア感染犬より分離したトロフォゾイトをマウス、ラット、スナネズミに経口投与し、イヌ由来のジアルジアを用いて実験動物への人工感染を試みた。

材料および方法

1. ジアルジア・トロフォゾイトの腸管からの分離

ジアルジア感染犬の十二指腸を摘出し、Hank's 液で腸管内容物を洗い流した後、粘膜を剥離し試験管に移した。これに Hank's 液を適量加え、パスツールピペットで吸引・排出を繰り返し組織を粉碎したのち、ガーゼを用いて濾過し、粗大な組織片を除去した。次に、 $800 \times g$ 、10分間遠心して得られた残渣をトロフォゾイト浮遊液として用いた。この浮遊液について顕微鏡下でジアルジア・トロフォゾイトを確認し (Fig. 1), そのおよその虫体数を算定した。また、以下の実験で人工的に感染させた動物からのトロフォゾイトの分離も同様の方法で行った。

2. 供試動物

本実験では、4~8 週齢の ICR 系マウス、SD 系ラット、TUM 系スナネズミの雄を用い、固形飼料 (オリエンタル酵母, MF) および水 (水道水) は自由摂取とした。

3. 経口投与

トロフォゾイト浮遊液をマウス、ラット、スナネズミ各15頭に、それぞれ胃ゾンデを用いて0.5ml (虫体数 3.5×10^4 個) 経口投与した。

4. 感染の確認

トロフォゾイトを投与した動物のうち各10頭については、投与日の翌日より1ヶ月間、糞便を採取し、硫酸亜鉛浮遊法によりシストの確認を行い、糞便の状態を観察するとともに糞便1g 当たりの排泄シスト数を計測した。排泄シスト数については、糞便重量1 に対して50倍容の Hank's 液を加え攪拌懸濁させたのち、その懸濁液0.1ml について顕微鏡下でシスト数を計測し、糞便1g 当たりの量として算出した。さらに、投与1ヶ月後に腸管を摘出し、小腸の粘膜を剥離し、Hank's 液に懸濁させ、顕微鏡下でトロフォゾイトの確認を行った。

また、その他の各5頭については、投与1週間後に腸管内検査でトロフォゾイトの確認を行った。

結 果

1. マウス

ジアルジア・トロフォゾイトの経口投与2~4 日後から10頭すべてに、糞便中へのシストの排泄が確認された (Table 1)。そのうち2頭 (No. 4, 8) については検査期間をとおしてシスト排泄が続いたが、他の8頭については約3 週間でシストの排泄が確認されなくなった。

排泄シスト数には、個体差が認められたが、最初にシストの排泄が確認された後、急激に増加して投与4~7 日目に最大値を示した。この時、最大で 2.6×10^6 個/g のシストの排泄が確認された (No. 2)。それ以後は、排泄が確認されなくなるまで、数回増減するものの、漸

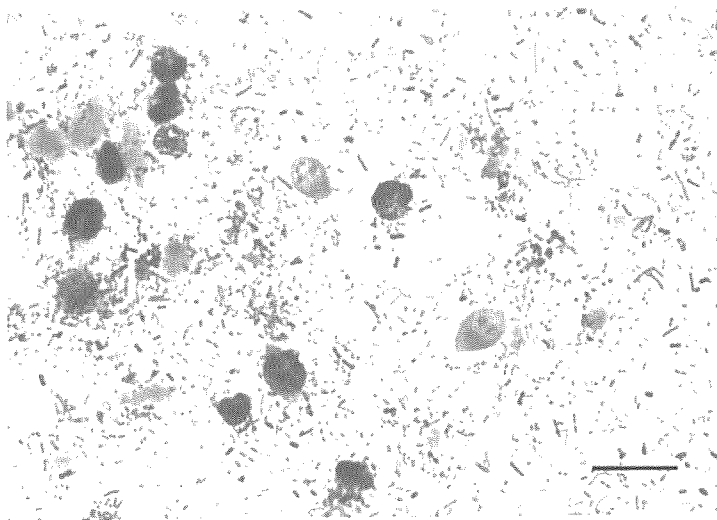


Fig. 1 Dog-derived *Giardia* trophozoites used in experimental infection and *in vitro* cultivation (wright staining). Bar equals $20 \mu m$.

Table 1 Experimental infection of mice inoculated with 3.5×10^4 dog-derived *Giardia* trophozoites/animal

Animal number	Age(weeks) of animals	Interval days from the inoculation until an outbreak of diarrhea (days)	Interval days from the inoculation until cyst excretion in feces (days)	Duration of cyst excretion in feces (days)	The maximum excretion of cysts in feces ($\times 10^6$ cysts/g)
1	4	—	3	17	0.7
2	4	3	3	20	2.6
3	5	5	2	16	0.6
4	5	4	3	30	2.4
5	5	3	2	22	1.6
6	6	5	4	19	2.3
7	6	4	3	18	0.4
8	7	6	3	30	1.5
9	7	4	4	21	2.0
10	8	—	2	16	0.3

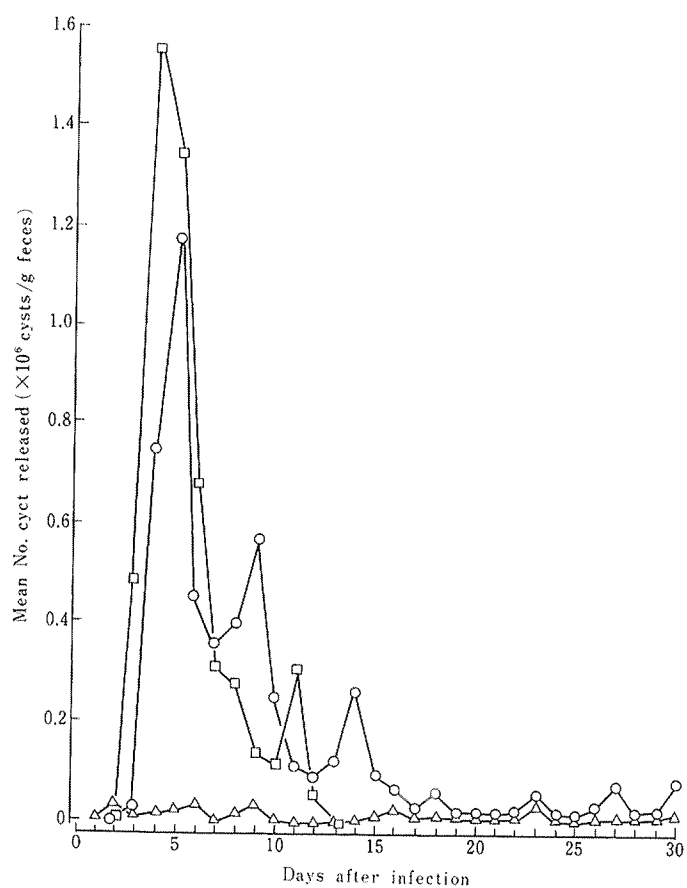


Fig. 2 The course of infection in mice (○), rats (△) and Mongolian gerbils (□) after administration of 3.5×10^4 dog-derived *Giardia* trophozoites/animal. For cyst release, each point represents the mean number of cysts released by ten animals.

次減少していった (Fig. 2)。

また、排泄シスト数の多い6頭 (No. 2, 4, 5, 6, 8, 9) は間欠的に下痢を呈したが、他の4頭はやや軟便を示したにすぎなかった。

2. ラット

投与翌日から10頭すべてに糞便中へのシストの排泄が確認されたが、その数は他の動物に比較して極めて小数であった (Fig. 2, Table 2)。なお、No. 4を除く9頭すべてに、検査期間をととしてシストの排泄が確認された。

下痢、脂肪便等の本原虫による特有の症状は、すべての個体で確認され慢性的な経過を示した。

3. スナネズミ

10頭すべてに、投与2~3日後から糞便中へのシストの排泄が確認された (Table 3)。しかし、シストの排泄期間は他の動物に比較して平均的に短く、長いもので

15日間 (No. 1)、短いもので6日間 (No. 3, 4) であった。

排泄シスト数は、各個体で投与後4~7日で最大値に達したものの、それ以後は急激な減少を示した (Fig. 2)。

スナネズミにおいても、下痢などの本原虫による特有の症状が著明に発現したが、回復も早く、シストの排泄が確認されている期間においても、糞便は正常な状態に戻った。

また、再感染を想定して、シストの排泄が終了したスナネズミに再びトロフォゾイトを投与した結果、初回投与より、シストの排泄期間は短くなり、排泄シスト数も少なくなった。これは、最初の感染で、本原虫に対する抵抗性が生じたためと考えられた。

なお、本実験においてシストの経口投与を試みたが、いずれの動物に対しても感染は成立しなかった。

Table 2 Experimental infection of rats inoculated with 3.5×10^4 dog-derived *Giardia* trophozoites/animal.

Animal number	Age(weeks) of animals	Interval days from the inoculation until an outbreak of diarrhea (days)	Interval days from the inoculation until cyst excretion in feces (days)	Duration of cyst excretion in feces (days)	The maximum excretion of cysts in feces ($\times 10^6$ cysts/g)
1	4	2	1	30	5.5
2	4	7	1	30	6.9
3	4	6	1	30	6.0
4	5	2	1	28	6.9
5	5	5	1	30	5.8
6	6	3	1	30	6.2
7	6	4	1	30	5.6
8	7	7	1	30	5.9
9	8	3	1	30	6.8
10	8	5	1	30	6.4

Table 3 Experimental infection of Mongolian gerbils inoculated with 3.5×10^4 dog-derived *Giardia* trophozoites/animal.

Animal number	Age(weeks) of animals	Interval days from the inoculation until an outbreak of diarrhea (days)	Interval days from the inoculation until cyst excretion in feces (days)	Duration of cyst excretion in feces (days)	The maximum excretion of cysts in feces ($\times 10^6$ cysts/g)
1	4	7	2	15	3.1
2	4	1	3	11	2.2
3	5	8	3	6	2.3
4	5	3	3	6	0.3
5	6	5	3	7	2.3
6	6	3	2	14	0.4
7	7	2	2	10	2.2
8	7	5	3	7	2.0
9	7	4	3	8	3.0
10	8	3	3	7	2.5

4. 腸管内検査

4.1 1週間後

すべての動物において、腸管内にジアルジア・トロフォゾイトが確認された。

マウス、スナネズミでは十二指腸および空腸上部に無数のトロフォゾイトが確認されたが、ラットでは空腸および回腸上部にマウス、スナネズミに比較して少数認められた。

また、その寄生部位の腸管は膨大し、腸管内は粘性の低い漿液が充満し、腸壁は脆弱で出血を呈するものも認められた。

4.2 1ヶ月後

ジアルジア・トロフォゾイトが検出された個体数は、マウスで10頭中8頭、ラットで10頭中9頭、スナネズミで10頭中1頭であった。ジアルジア寄生が確認された個体において、腸管内に1週間後に確認されたのとはほぼ同様の所見が認められた。

考 察

異種動物へのジアルジア感染実験については、ヒト由来の *G. lamblia* のシストあるいはトロフォゾイトを用いたものがいくつか報告されている。CRAFT²⁾ は、ラットにおいてシストの投与2～8日後に感染が確認され、投与を行ったすべてのラットにジアルジア感染が成立し、その96%は28日～42日後まで感染が持続したと報告している。

スナネズミについて、BELOSEVIC ら⁴⁾ は *G. lamblia* のシストを投与後8日目に最初のシストが糞便中に排泄され、その排泄期間は13日～39日間であり、一方トロフォゾイトの投与では、9～12日目に最初のシストが排泄され、2～4週間排泄が持続したと述べている。この実験において、30日後においても5頭中3頭の腸管内にトロフォゾイトが確認されている。また、HEWLETT ら¹⁾ はイヌへの感染実験において、シストの経口投与で感染が成立したのは8頭中3頭で、うち1頭は約24週間もシストの排泄が続き、トロフォゾイトの投与では3頭中2頭において30日間以上シストが排泄されたことを確認している。これらの報告は、ヒト由来の *G. lamblia* は異種動物への感染が可能であり、宿主特異性が極めて低いことを示唆するものである。

一方、本実験では、イヌ由来のジアルジアを投与した動物から検出されたトロフォゾイト数、シスト数が、投与したトロフォゾイト数を上回ったこと、種差、個体差はあるものの一定期間腸管内にジアルジアの寄生が認められたこと、全ての動物にジアルジア症に特有の症状が観察されたことから、マウス、ラット、スナネズミ

に対して感染が成立したことが確認できる。従って、本実験に用いたイヌ由来のジアルジアも *G. lamblia* 同様宿主特異性が低く、宿主域が広いものと推察される。

ところで、前述のヒト由来の *G. lamblia* を用いた報告によると、ラットではトロフォゾイトの経口投与によってシストが排泄されるのに10日前後要しているにも係わらず、シストの経口投与によっても感染が成立しているのに対して、本実験ではトロフォゾイトの経口投与の翌日にはすべての個体でシストの排泄が確認されたものの、シストの投与による感染は認められなかった。また、スナネズミについては *G. lamblia* に対する感受性は非常に高く、2週間以上にわたってシストが排泄されたのに対して、本実験で用いたイヌ由来のジアルジアはすべての個体で感染したにも係わらずシストの排泄期間は平均9.1日と極めて短いものであった。以上のことから、本実験に用いたイヌ由来のジアルジアはヒト由来の *G. lamblia* とは異なった種であると考えられる。この点についてさらに詳細な検討を加えるため、人工感染させたマウス、ラットの腸管粘膜からトロフォゾイトの純粋な分離を試みた。夾雑物を除去するため、nylon fiber を用いてトロフォゾイトを浄化する方法⁵⁾ や温度変化によって吸着・離脱する性質を利用し回収する方法⁶⁾ など試みたが、分離されるトロフォゾイトの数が極めて少なく、そのかわりに夾雑物が多く混入するという結果しか得られなかった。

以上のように、実験動物への感染実験では感染が成立し増殖が確認されたものの、トロフォゾイトのみの純粋な分離には至らなかった。しかし、ジアルジア株の確立のためには、夾雑物を含まない大量のトロフォゾイトあるいはシストが必要なため、純粋に分離する方法を確立することが必要不可欠であり、培養による増殖を試みるなど今後の検討課題としたい。

要 約

ジアルジア感染犬より分離したトロフォゾイト (3.5 × 10⁴ 個/匹) をマウス、ラット、スナネズミに経口投与したところ、すべての動物で感染が成立した。マウスで16～30日間、ラットで28～30日間糞便中にシストの排泄が認められたが、スナネズミでは6～15日間しかシストの排泄は認められなかった。

文 献

- 1 HEWLETT, E. L., ANDREWS, J. S., RUFFIER, J. and SCHAEFER, F. W., 1982: Experimental infection of mongrel dogs with *Giardia*

- lamblia* cysts and cultured trophozoites. *J. Infect. Dis.*, **145**, 89-93.
- 2 CRAFT, J. C., 1982: Experimental infection with *Giardia lamblia* in rats. *J. Infect. Dis.*, **145**, 495-498.
 - 3 FAUBERT, G. M., BELOSEVIC, M., WALKER, T. S., MACLEAN, J. D. and MEEROVITCH, E., 1983: Comparative studies on the pattern of infection with *Giardia* spp. in mongolian gerbils. *J. Parasitol.*, **69**, 802-805.
 - 4 BELOSEVIC, M., FAUBERT, G. M., MACLESN, J. D., LAW, C. and CROLL, N. A., 1983: *Giardia lamblia* infections in mongolian gerbils: An animal model. *J. Infect. Dis.*, **145**, 89-93.
 - 5 ANDREWS, J. S., ELLNER, J. J. and STEVENS, D. P., 1980: Purification of *Giardia muris* trophozoites by using nylon fiber columns. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **29**, 12-15.
 - 6 FEELY, D. E. and ERLANDSEN, S. L., 1981: Isolation and purification of *Giardia* trophozoites from rat intestine. *J. Parasitol.*, **67**, 59-64.